

# „Restriktionsenzyme - Physikalische Chemie und Enzymologie“

Maaß, Günter

Veröffentlicht in:  
Jahrbuch 1999 der Braunschweigischen  
Wissenschaftlichen Gesellschaft, S.61-62



J. Cramer Verlag, Braunschweig

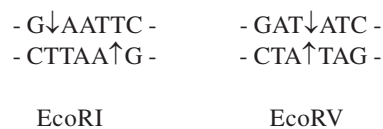
Dr. Günter Maaß, Hannover

**„Restriktionsenzyme - Physikalische Chemie und Enzymologie“**

Braunschweig, 12.03.99\*

Restriktionsendonukleasen sind Enzyme, die kurze Desyribonukleinsäuresequenzen spezifisch erkennen und in beiden Strängen spalten. Sie finden sich in prokaryotischen Organismen und ihre biologische Funktion besteht darin, diese gegen eindringende Fremd-DNA in Form von Bakteriophagen zu schützen, indem die Phagen-DNA gezielt gespalten wird. Die zelluläre DNA wird dabei durch spezifische Methylierung in der Erkennungssequenz vor Spaltung geschützt.

Berühmt wurden die Restriktionsenzyme weniger als bakterienspezifisches Abwehrsystem gegen eindringende Bakteriophagen, sondern als die entscheidenden Werkzeuge in der Gentechnologie. Nur mit ihrer Hilfe wurde es möglich, lange DNA-Moleküle gezielt zu spalten und so einer Analyse zuzuführen. Die heutigen Erfolge in der Aufklärung von Genomstrukturen sind ohne die Restriktionsenzyme undenkbar. Die am ausführlichsten untersuchten Restriktionsenzyme sind die des Typs II, die als Homodimere vorliegen,  $Mg^{2+}$  als Cofaktor benötigen, kurze palindrome DNA-Sequenzen von 4-8 Basenpaaren Länge erkennen und die DNA innerhalb der Erkennungssequenz oder in unmittelbarer Nachbarschaft spalten, wie es am Beispiel der beiden Enzyme Eco RI und Eco RV gezeigt ist.



An diesen beiden Enzymen sind der Mechanismus der Enzym-DNA-Erkennung und die Spaltungsreaktion in meinem Institut ausführlich untersucht worden. Dabei ergab sich sowohl für den Physikochemiker als auch den Chemiker und den Enzymologen eine Fülle neuartiger Erkenntnisse.

Der erste Schritt des Erkennungsprozesses besteht in einer unspezifischen Bindung des Proteins an die DNA, gefolgt von einer Reihe von Dissoziations- und erneuten Assoziationsschritten und/oder einer eindimensionalen Diffusion entlang der DNA, bis die Zielsequenz erreicht ist. Jetzt finden Konformationsänderungen der Reaktionspartner statt, die zur Aktivierung des katalytischen Zentrums und anschließender DNA-Spaltung führen. Der letzte Schritt ist die Dissoziation der Reaktionspartner.

Bei diesem komplexen Reaktionszyklus ist eine Vielzahl von Einzelschritten beteiligt. Die unspezifische Protein-Nukleinsäurewechselwirkung beruht im wesentlichen auf elek-

---

\* Vortrag gehalten in der Klasse für Mathematik und Naturwissenschaften der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft.

trostatischer Anziehung zwischen dem negativ geladenen Polyelektrolyten DNA und positiv geladenen Aminosäureseitenketten im Protein. Diese Wechselwirkung ist gleichzeitig die Grundlage der linearen Diffusion. Für die hochspezifische Erkennung der eigentlichen Zielsequenz wird das ganze Spektrum der so genannten schwachen Wechselwirkungen eingesetzt: die genannten elektrostatischen Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken zwischen Aminosäureseitenketten im Protein und Nukleinsäurebasen und van der Waals Kontakte. Der Erkennungsprozeß ist hochredundant, so dass in vielen Positionen der Erkennungssequenz Basenpaare ohne nennenswerte Konsequenzen für die Spaltungseffizienz ausgetauscht werden können.

Als gänzlich neues Prinzip der enzymatischen Katalyse wurde in den von uns untersuchten Systemen (s. o.) das Prinzip der „Substratunterstützten Katalyse“ entdeckt: Bei der Nukleinsäurespaltung handelt es sich um eine Phosphoesterhydrolyse, die Säure-Base katalysiert abläuft; aufgrund der bereits bekannten Struktur des Protein-DNA-Komplexes konnte zwar die Ligandenbindung des essentiellen Cofaktors  $Mg^{2+}$  festgelegt werden, jedoch keine Aminosäureseitenketten, die ein geeignet positioniertes Wassermolekül zur Spaltung der Phosphoesterbindung aktivieren konnten. Durch eine Vielzahl von Experimenten konnten wir nachweisen, dass diese Wasseraktivierung von dem negativ geladenen Sauerstoff der Phosphatgruppe, die der zu spaltenden Bindung benachbart ist, übernommen wird. Inzwischen konnte dieses neue Prinzip auch für andere an Nucleotidyl- oder Phosphoryltransfer beteiligte Enzyme nachgewiesen werden. Eine ausführliche Darstellung des Prinzips der „Substratunterstützten Katalyse“ ist nachzulesen in *PNAS Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, 8499-8503 (1993).

---

Prof. Dr. rer. nat. Günter Maaß  
Im Eichholz 27  
D-30657 Hannover